



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

<b>(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> :</b> <b>A61K 31/44, 31/42, 47/02</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Numéro de publication internationale: WO 98/22107</b> <b>(43) Date de publication internationale: 28 mai 1998 (28.05.98)</b>
<b>(21) Numéro de la demande internationale:</b> PCT/FR97/02047 <b>(22) Date de dépôt international:</b> 14 novembre 1997 (14.11.97) <b>(30) Données relatives à la priorité:</b> 96/14062 19 novembre 1996 (19.11.96) FR <b>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US):</b> RHONE-POULENC RORER S.A. [FR/FR]; 20, rue Raymond Aron, F-92160 Antony (FR). <b>(72) Inventeurs; et</b> <b>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement):</b> BOUNINE, Jean-Paul [FR/FR]; 35 bis, rue Georges Médéric, F-94700 Maisons Alfort (FR). CONRATH, Guillaume [FR/FR]; 424, avenue de la Division Leclerc, F-92290 Châtenay Malabry (FR). <b>(74) Mandataire:</b> LOBJOIS, Françoise; Rhône-Poulenc Rorer S.A., Direction Brevets, 20, avenue Raymond Aron, F-92165 Antony Cedex (FR).		<b>(81) Etats désignés:</b> AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, GH, HU, ID, IL, IS, JP, KP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, brevet ARIPO (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG).  <b>Publiée</b> <i>Avec rapport de recherche internationale.</i>
<b>(54) Title:</b> STABILISED PHARMACEUTICAL COMPOSITIONS, WITH QUINUPRISTINE AND DALFOPRISTINE BASE AND THEIR PREPARATION <b>(54) Titre:</b> COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES STABILISEES, A BASE DE QUINUPRISTINE ET DE DALFOPRISTINE ET LEUR PREPARATION <b>(57) Abstract</b> <p>The invention concerns a stabilised pharmaceutical composition, with a combined quinopristine/dalfopristine base, containing at least a stoichiometric amount of methanesulphonic acid or hydrochloric acid and is characterised in that its pH is included in the {3.5; 5} interval.</p> <b>(57) Abrégé</b> <p>Composition pharmaceutique stabilisée, à base de l'association quinupristine/dalfopristine, comprenant une quantité au moins stoechiométrique d'acide méthanesulfonique ou d'acide chlorhydrique et en ce que son pH est compris dans l'intervalle [3,5; 5].</p>		

### UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

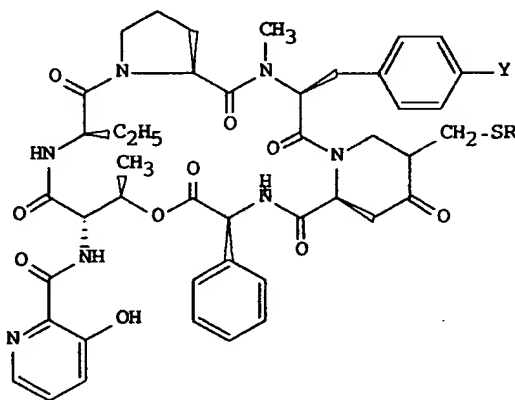
Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	B Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Caméroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LJ	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

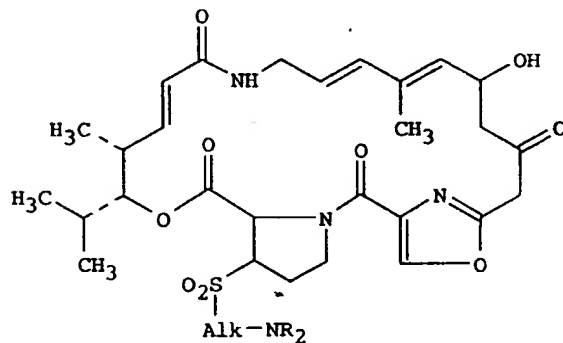
COMPOSITIONS PHARMACEUTIQUES STABILISEES, A BASE DE QUINUPRISTINE ET  
DE DALFOPRISTINE ET LEUR PREPARATION

La présente invention concerne des compositions pharmaceutiques stabilisées destinées à l'administration parentérale de quinupristine et de dalfoprismine composantes du Synercid®.

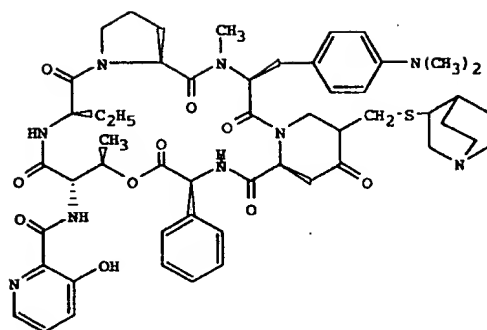
Dans la demande de brevet EP 248 703 ont été décrits les dérivés de pristinamycine I de formule générale :



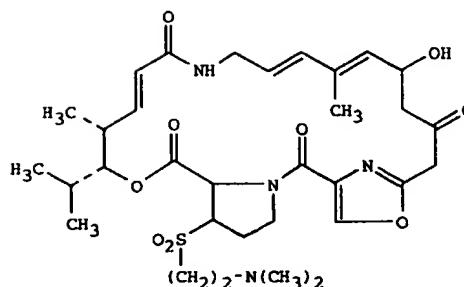
ainsi que leurs associations avec des dérivés de pristinamycine II de structure :



La quinupristine, dérivé de pristinamycine I, et la dalfoprismine, dérivé de pristinamycine II, sont les composantes du Synercid® :



quinupristine



dalfopristine

Le Synercid® (quinupristine / dalfopristine) est une combinaison 30/70, injectable, dont l'activité antibactérienne, notamment sur les germes résistants à la vancomycine, est citée dans de nombreuses publications [The Annals of Pharmacotherapy, 29, 1022-1026 (1995) ;  
 5 Microbial Drug resistance, 1, 223-234 (1995)].

La solubilisation des composantes isolées quinupristine ou dalfopristine peut être obtenue à l'état de sel.

Cependant le fait de devoir solubiliser une association pose de nombreux problèmes. Notamment le problème de trouver un agent  
 10 salifiant capable de convenir à chacune des composantes. De plus, il est nécessaire de s'assurer que la composition pharmaceutique présente une stabilité telle, que le dosage de principe actif initialement fixé est constant au cours de la durée de vie du médicament. La constitution des compositions pharmaceutiques  
 15 stabilisées comprenant l'association quinupristine / dalfopristine, la stabilité des solutions et/ou des lyophilisats préparés à partir des solutions, a posé de sérieux problèmes de réalisation pouvant remettre en question la possibilité d'en faire un médicament stockable et donc commercialisable. Ceci notamment du fait de  
 20 l'apparition importante d'impuretés de dégradation.

Il a maintenant été trouvé que l'on pouvait stabiliser les compositions pharmaceutiques comprenant l'association quinupristine / dalfopristine, par utilisation de quantités au moins stoechiométriques d'acide méthanesulfonique ou d'acide chlorhydrique, et à

un pH compris dans l'intervalle [3,5 ; 5]. Ainsi, les solutions à base d'acide méthanesulfonique ou chlorhydrique ayant un pH compris dans l'intervalle [3,5 ; 5] sont suffisamment stables pour la réalisation d'une préparation industrielle et conduisent selon le cas à des lyophilisats, à des solutions reconstituées après lyophilisation et/ou à des solutions congelées stables donc stockables en vue de la commercialisation et/ou d'un usage thérapeutique.

Les compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'invention sont notamment des solutions aqueuses comprenant :

- 10        - la dalfopristine et la quinupristine ;
- l'acide méthanesulfonique ou chlorhydrique, au moins en quantité stoechiométrique par rapport à la somme de la dalfopristine et de la quinupristine introduites ;
- si nécessaire un excès d'acide méthanesulfonique ou
- 15        chlorhydrique destiné à ajuster le pH de la solution ainsi formée, dans l'intervalle [3,5 ; 5] ;
- éventuellement un agent isotonisant et/ou d'autres adjuvants pharmaceutiquement acceptables ;
- une quantité d'eau convenable pour ajuster la concentration
- 20        de la solution.

Les solutions ainsi obtenues présentent l'avantage d'être stabilisées.

Selon un autre aspect de l'invention elles peuvent être lyophilisées par application des techniques habituelles après abaissement de la température et élimination de l'eau. Elles peuvent être reprises par de l'eau au moment de l'injection. Selon encore un autre aspect de l'invention elles peuvent également être congelées.

Lorsque la composition obtenue est lyophilisée celle-ci peut être remise en solution au moment de l'emploi dans tout milieu injectable compatible et pharmaceutiquement acceptable. Le lyophilisat peut être avantageusement repris par exemple par de l'eau pour préparation injectable ou par des solutés de perfusion (chlorure de sodium ou

solution glucosée notamment). Lorsque la solution a été congelée (poche congelée par exemple), elle peut être décongelée au moment de l'emploi. Dans une autre alternative le lyophilisat peut être aussi remis en solution diluée (contenant de préférence moins de 20 mg/ml de principe actif), ladite solution étant conservée jusqu'au moment de l'emploi.

Il est entendu que la présente invention peut s'appliquer également aux autres dérivés solubles de la pristinamycine. Par exemple elle peut aussi s'appliquer à des dérivés tels que décrits dans les brevets européens EP 133097, EP 135410, EP 191662, EP 248703.

Les compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'invention contiennent de préférence des concentrations en principe actif quinupristine / dalfoprastine comprises entre 5 et 250 mg/ml ou dans le cas d'un lyophilisat dans des proportions comprises entre 5 et 95 % ; une proportion de 20 à 90 % étant encore préférée. Il est bien entendu que des compositions pharmaceutiques stabilisées de concentration inférieure sont également réalisables et cliniquement utilisables ; ces solutions entrent également dans le cadre de la présente invention.

La quantité d'acide est fonction de la quantité de dalfoprastine et de quinupristine. Elle est déterminée de manière à avoir au moins les proportions stoechiométriques et de telle manière à obtenir des solutions dont le pH est compris dans l'intervalle [3,5 ; 5].

Selon un aspect préféré de l'invention le pH de la solution initiale est fixé dans un intervalle de [3,5 ; 4,5], de préférence 3,5.

Selon un autre aspect préféré de l'invention dans le cas d'une composition lyophilisée, le pH de la solution à lyophiliser est fixé dans un intervalle de [4,5 ; 5].

Lorsque les compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'invention contiennent un adjuvant pharmaceutiquement acceptable, ce dernier peut être choisi par exemple parmi les cosolvants, des

stabilisants, des agents cryoprotecteurs, des agents dessiccants, des charges et des agents isotonisants.

A titre non limitatif les cosolvants et les agents solubilisants peuvent être choisis parmi les polyéthylèneglycols (polyéthylène-glycols 300 et 400), le propylèneglycol, l'éthanol et les agents tensioactifs comme par exemple le polysorbate 80 ou les dérivés polyoxyéthylénés (crémophors) ; les charges et les agents cryoprotecteurs peuvent être notamment choisis parmi les sucres simples (par exemple le glucose, le mannitol, le fructose, le sorbitol), les disaccharides (par exemple le saccharose, le lactose, le tréhalose, le maltose) ou les polymères hydrosolubles (par exemple les dextrans, la carboxyméthylcellulose, la polyvinylpyrrolidone ou la gélatine) ; les agents stabilisants peuvent être notamment choisis parmi les agents anti-oxydants... ; les agents isotonisants peuvent être notamment choisis parmi le glucose, le chlorure de sodium, le glycérol, le sorbitol, le mannitol, le fructose, ou les dextrans 40 et 70. Lorsque le pH de la solution est élevé (pH = 5 ou voisin de 5), si l'on souhaite préparer une solution concentrée, il est préférable de choisir un agent isotonisant autre que le chlorure de sodium.

Les compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'invention sont plus spécialement destinées à l'administration par voie parentérale. Elles peuvent être également utilisées par voie orale, oculaire, auriculaire ou en application locale sur la peau et les muqueuses.

Les compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'invention sont préparées par mise en solution simultanée ou successive de la quinupristine, la dalfopristine, l'acide méthanesulfonique ou l'acide chlorhydrique dans de l'eau, puis ajustement du pH dans l'intervalle [3,5 ; 5] et/ou addition d'un agent isotonisant et/ou addition d'autres adjuvants pharmaceutiquement acceptables et le cas échéant lyophilisation et/ou congélation.

Selon un aspect préféré, les compositions selon l'invention sont préparées par dissolution de la composante quinupristine puis de la

composante dalfopristine dans de l'eau acidifiée par l'acide méthanesulfonique ou l'acide chlorhydrique, suivie le cas échéant de l'ajustement du pH dans l'intervalle [3,5 ; 5] et/ou de l'addition d'un agent isotonisant et/ou d'autres adjuvants pharmaceutiquement acceptables. Elles sont le cas échéant lyophilisées et/ou congelées.

La préparation et la répartition de la solution sont effectuées généralement de 0°C à la température ambiante, de préférence à basse température, cette température étant fonction de la durée de la préparation et du pH. Notamment on opère à une température inférieure à 10°C.

Les compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'invention peuvent éventuellement être stérilisées. On opère avantageusement par filtration stérilisante.

Les compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'invention, à l'état liquide, lyophilisé ou congelé présentent l'avantage d'une stabilité physico-chimique optimale permettant une conservation pendant une durée suffisante pour en faire un médicament stockable et donc commercialisable.

Selon un aspect préféré de l'invention, on entend par compositions pharmaceutiques stabilisées, les compositions ne présentant pas plus de :

- 2,0% d'augmentation du taux de chacune des impuretés majeures de dégradation (A et B) après conservation 24 mois à 4°C ou 12 mois à 20°C lorsqu'il s'agit d'un lyophilisat,
- 2,0% d'augmentation du taux de chacune des impuretés majeures de dégradation (A et B) après conservation 18 heures entre 0 et 6°C lorsqu'il s'agit de solutions concentrées avant ou après lyophilisation,
- 2,0% d'augmentation du taux de chacune des impuretés majeures de dégradation (A et B) après conservation 3 mois à -20°C lorsqu'il s'agit d'une composition congelée,



- 5% d'augmentation du taux de chacune des impuretés majeures de dégradation (A et B) après conservation 6 heures à température ambiante ou 72 heures à 4°C lorsqu'il s'agit de solutions diluées pour perfusion.

- 5 Les exemples suivants donnés à titre non limitatif illustrent la présente invention.

Exemple 1

- On prépare un litre d'une solution à 125 mg/ml de quinupristine/dalfopristine (30/70), salifiée par de l'acide méthanesulfonique  
10 (= 16,7 mg/ml) à un pH de 4,75 en introduisant 810 g d'eau pour préparation injectable dans une cuve de dissolution équipée d'une station de réfrigération. La solution est réfrigérée à une température comprise entre 0 et 6°C tout au long de la fabrication. On ajoute 16,4 g d'acide méthanesulfonique, puis on introduit  
15 successivement 37,5 g de quinupristine qui sont dissous par agitation mécanique et 87,5 g de dalfopristine qui sont également dissous par agitation mécanique. Le pH de la solution est ajusté à 4,75 par une solution 1N d'acide méthanesulfonique. La solution est complétée à 1 litre (1030 g) avec de l'eau pour préparation injectable.
- 20 Cette solution est stérilisée par filtration stérilisante (filtre 0,22 µm) et répartie dans des flacons [500 mg de quinupristine/dalfopristine (30/70) par flacon] puis lyophilisée. [congélation : température -30°C à -50°C ; vitesse de congélation environ 0,5°/min. Sublimation : pression 0,5 mbar. Dessiccation secondaire : pression  
25 (= 30 µbars) température 40°C].

- La qualité et la stabilité au cours du stockage des lyophilisats ou de la solution reconstituée sont évaluées par une méthode de chromatographie liquide haute performance en phase inverse (CLHP) qui permet de déterminer la teneur en dalfopristine et en quinupristine  
30 et la teneur en impuretés de dégradation.

analyse CLHP:

Phase stationnaire	Silice greffée octadécylsilane, Lichrospher-100 RP18, 5µm
Détection	U.V. 254 nm
Dimensions de la colonne	125 x 4 mm
Température de la colonne	40°C
Phase mobile A	Tampon phosphate pH 2,9 .....80 V Acétonitrile .....20 V
Phase mobile B	Tampon phosphate pH 2,9 .....35 V Acétonitrile .....65 V
Gradient	de 0% phase mobile B à 66% phase mobile B en 42,5 min suivi d'un retour à 0% phase mobile B en 1,5 min et rééquilibrage pendant 5 min
Débit de la phase mobile	1,1 ml/min

La méthode d'analyse par CLHP permet de déterminer les teneurs en quinupristine et dalfopristine avec une précision de 2% et les impuretés de dégradation sont déterminées à 0,1% près.

- 5 Deux lots, lyophilisés, de quinupristine/dalfopristine (30/70) constitués de flacons de 500 mg de principe actif (lot 1a et lot 1b) ont été fabriqués selon le procédé ci-dessus et leur stabilité étudiée à 4°C au cours d'un stockage pendant une période de 2 ans. Les résultats de l'étude de stabilité de chacun de ces 2 lots montre
- 10 une bonne conservation des titres des principes actifs et une dégradation peu importante (voir tableaux I et II).

- Des solutions de quinupristine/dalfopristine (30/70) sont reconstituées à partir de ces lyophilisats, en reprenant par 5,0 ml de glucose à 5 %. Dans ces conditions, la stabilité de la solution
- 15 concentrée ainsi constituée (prémix) étudiée sur une période de 60 minutes est jugée largement satisfaisante pour permettre une dilution ultérieure dans une poche de perfusion (voir tableau III).

Dans les conditions de dilution prévues pour une administration clinique (500 mg de quinupristine/dalfopristine (30/70) dans une

poche de 250 ml de glucose à 5 %), la formulation assure une stabilité satisfaisante sur une période au moins égale à 72 heures à 4°C ou 6 heures à 25°C (voir tableaux IV et V).

Résultats de stabilité des lyophilisats sur 2 ans :

5 Etude de stabilité du lot 1a sur une période de 24 mois à 4°C

Lot 1a	T0	3 mois	6 mois	9 mois	12 mois	18 mois	24 mois
<i>Titre (mg/flacon)</i>							
Dalfopristine	350	347	343	343	345	358	342
Quinupristine	149	146	147	149	145	153	144
<i>% impuretés</i>							
(A)	1,0	1,0	1,0	0,9	0,9	1,0	0,8
(B)	0,5	0,6	0,7	0,4	0,6	0,6	0,5
(C)	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1
(D)	0,5	0,5	0,5	0,4	0,4	0,5	0,3
(E)	0,3	0,2	-	0,1	0,2	0,1	0,1

Tableau I

Etude de stabilité du lot 1b sur une période de 24 mois à 4°C

Lot 1b	T0	6 mois	9 mois	12 mois	18 mois	24 mois
<i>Titre (mg/flacon)</i>						
Dalfopristine	349	340	343	343	340	340
Quinupristine	148	144	146	142	143	142
<i>% impuretés</i>						
(A)	1,0	0,8	0,8	0,9	0,9	0,8
(B)	0,5	0,6	0,4	0,6	0,4	0,5
(C)	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2
(D)	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3
(E)	0,1	-	0,2	0,2	0,2	0,1

Tableau II

Résultats de stabilité de la solution concentrée reconstituée à partir de lyophilisats (premix):

Premix	T0	15 min	30 min	45 min	60 min
<i>Titre (% par rapport T0)</i>					
Dalfopriline	100,0	99,7	100,2	99,0	99,0
Quinupristine	100,0	100,2	100,7	99,6	101,1
<i>% impuretés</i>					
(A)	0,74	0,89	1,02	1,12	1,28
(B)	0,51	0,62	0,69	0,72	0,78
(D)	0,47	0,49	0,46	0,53	0,61
Somme des autres impuretés	0,28	0,30	0,32	0,33	0,38

Tableau III

Résultats de stabilité des solutions pour perfusion :

- 5 Trois lots de lyophilisats fabriqués comme décrit ci-dessus (lot 1c, lot 1d, lot 1e) ont été utilisés pour tester la stabilité des solutions diluées dans les conditions cliniques (500 mg de quinupristine/dalfopriline (30/70) lyophilisé dilué dans 250 ml de glucose à 5%).
- 10 Stabilité des solution diluées pour perfusion sur une période de 72 heures à 4°C

Lots testés	lot 1c		lot 1d		lot 1e	
	To	72h à 4°C	To	72h à 4°C	To	72h à 4°C
<i>(mg/250 ml)</i>						
Dalfoprastine	313	297	314	301	318	306
Quinupristine	135	127	134	129	136	131
<i>% impuretés</i>						
(A)	1,5	4,2	1,1	4,1	1,6	4,5
(B)	0,7	0,9	0,6	0,8	0,8	1,0
(C)	0,2	0,3	0,1	0,3	0,2	0,3
(D)	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4
(E)	0,3	0,3	0,2	0,2	0,6	0,3

Tableau IV

Stabilité des solution diluées pour perfusion sur une période de 6 heures à température ambiante

Lots testés	lot 1c		lot 1d		lot 1e	
	To	6h à température ambiante	To	6h à température ambiante	To	6h à température ambiante
<i>(mg/250 ml)</i>						
Dalfoprastine	314	304	321	311	319	313
Quinupristine	134	132	137	136	137	136
<i>% impuretés</i>						
(A)	1,3	4,5	1,1	4,2	1,7	4,7
(B)	0,7	0,8	0,6	0,7	0,6	0,7
(C)	0,2	0,5	0,2	0,4	0,2	0,5
(D)	0,2	0,3	0,3	0,4	0,2	0,3
(E)	0,3	0,3	0,2	0,2	0,3	0,3

Tableau V

Exemple 2

On prépare des solutions à 125 mg/ml de quinupristine/dalfopristine (30/70), à un pH de 4,50, salifiées soit par l'acide chlorhydrique soit par l'acide méthanesulfonique selon le protocole suivant:

- 5 350 g d'eau pour préparation injectable sont introduits dans un bûcher de dissolution. A température ambiante, 30,0 g de quinupristine sont dispersés dans l'eau à l'aide d'une agitation mécanique. Une solution 1N d'acide méthanesulfonique ou d'acide chlorhydrique est ajoutée jusqu'à dissolution et obtention d'un pH de
- 10 4,50. 70,0 g de dalfopristine sont dispersés dans l'eau à l'aide d'une agitation mécanique, puis additionnés d'une solution 1N d'acide méthanesulfonique ou d'acide chlorhydrique jusqu'à dissolution et obtention d'un pH de 4,50. Une homogénéisation est effectuée pendant 10 minutes.
- 15 La solution est complétée à 0,8 litre (824 g) avec de l'eau pour préparation injectable.

La lyophilisation de cette solution selon le protocole décrit dans l'exemple 1 permet d'obtenir des lyophilisats dont la stabilité en cours de stockage est satisfaisante. Une étude de stabilité en cours

20 de stockage à 4°C et à température ambiante (TA) confirme la bonne stabilité des formulations (Cf. tableaux VI et VII).

Stabilité des lyophilisats à base d'acide méthanesulfonique sur une période de 1 an à 4°C et à température ambiante :

Acide méthane sulfonique	T0	6 mois		9 mois		1 an	
		4°C	T.A.	4°C	T.A.	4°C	T.A.
<i>Titre (mg/flacon)</i>							
Dalfopristine	332	322	299	328	319	324	310
Quinupristine	143	150	135	149	145	146	143
<i>% impuretés</i>							
(A)	3,7	4,0	3,9	3,4	3,3	4,3	4,4
(B)	1,9	1,7	1,7	1,6	2,2	1,9	2,8
(C)	0,3	0,5	0,9	0,3	0,3	0,3	0,3
(D)	1,4	1,4	1,5	1,2	1,2	1,4	1,4

Stabilité des lyophilisats à base d'acide chlorhydrique sur une période de 6 mois à 4°C et à température ambiante :

Acide chlorhydrique	T0	6 mois	
		4°C	T.A.
<i>Titre (mg/flacon)</i>			
Dalfopristine	327	333	313
Quinupristine	156	150	145
<i>% impuretés</i>			
(A)	1,7	1,6	1,4
(B)	1,6	1,6	2,4
(C)	0,3	0,2	0,2
(D)	0,9	0,4	0,4

Tableau VII

Exemple 3

- 5 On prépare respectivement selon l'exemple 1 ou 2, des solutions à 125 mg/ml de quinupristine/dalfopristine (30/70) à différents pH par addition d'une quantité variable d'acide méthanesulfonique 1N ; ces solutions sont destinées à la lyophilisation ou à la congélation. Le pH des solutions pour lyophilisation est fixé dans une gamme comprise
- 10 entre 4,5 et 4,8. Le pH des solutions destinées à la congélation est fixé dans une gamme comprise entre 3,5 et 4,5.

L'étude de stabilité des lots de lyophilisats (préparés dans les conditions de dissolution des principes actifs décrites à l'exemple 1, mais à l'échelle de 600 ml, en introduisant 150 ml d'eau et 35 à

15 50 ml d'une solution 1N d'acide méthanesulfonique avant dispersion des principes actifs), montre sur une période de 4 ans, une stabilité optimale (voir tableau VIII).

Stabilité des lyophilisats dans une gamme de pH de 4,3 à 4,8 sur une période de 4 ans à 4°C.

	lot 3a		lot 3b		lot 3c *		lot 3d	
	pH = 4,3		pH = 4,5		pH = 4,7		pH = 4,8	
	To	4ans 4°C	To	4ans 4°C	To	4ans 4°C	To	4ans 4°C
<i>Titre (mg/flacon)</i>								
Quinupristine	175	148	159	154	152	153	159	149
Dalfopristine	384	291	343	313	331	321	351	328
<i>% impuretés</i>								
(A)	0,6	0,5	0,6	0,8	0,8	0,9	1,1	1,1
(B)	1,0	3,3	0,8	2,1	0,9	1,2	1,0	1,1
(C)	0,5	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,3	0,5
(D)	0,8	0,7	0,9	0,6	0,7	0,6	0,8	0,5

\* lot préparé avec ajustement du pH par addition de 6,5 ml de NaOH 0,5N (dans les conditions décrites ci-après à l'exemple 5).

Stabilité des solutions destinées à la congélation, en cours de fabrication, dans les conditions de l'exemple 2 (Tableau IX) :



Analyse après dissolution des principes actifs, après filtration et avant congélation.

	Solution pH 3,5 lot 3e			Solution pH 4,0 lot 3f			Solution pH 4,5 lot 3g		
	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(3)
<i>Titre (mg/4ml)</i>									
Quinupristine	147	148	152	147	153	148	144	136	144
Dalfopristine	339	328	335	320	336	331	334	313	334
<i>% impuretés</i>									
(A)	2,0	1,9	2,0	1,8	1,8	2,0	2,6	3,3	3,6
(B)	0,9	1,1	1,3	1,0	1,0	1,6	1,0	1,5	1,7
(C)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,4	0,4	0,2	0,4	0,2
(D)	0,9	1,0	1,1	1,1	1,0	1,0	1,4	1,4	1,4

(1) : Après dissolution

(2) : Après filtration

Tableau IX

5 (3) : Avant congélation

#### Exemple 4

On prépare selon l'exemple 1, des solutions de quinupristine/dalfopristine (30/70) à un pH de 4,75 et à différentes concentrations comprises entre 125 mg/ml et 250mg/ml. Ces solutions sont utilisées pour l'obtention de lyophilisats à 500 mg. Les solutions les plus concentrées (200 et 250 mg/ml) sont plus lentes à mettre en oeuvre en raison du temps de mise en solution de la dalfopristine et de la durée d'ajustement du pH. L'étude montre que les profils de dégradation en cours de fabrication ne sont pas modifiés, seuls les temps de remise en solution des lyophilisats sont augmentés lorsque la concentration de la solution est augmentée (voir tableau X).

Profil de dégradation des solutions en cours de fabrication (après filtration et après lyophilisation)

Conditions de remise en solution des lyophilisats.

	lot 4a 125 mg/ml		lot 4b 143 mg/ml		lot 4c 167 mg/ml		lot 4d 200 mg/ml		lot 4e 250 mg/ml	
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)
<b>% impuretés</b>										
(A)	1,10	0,99	0,66	1,13	0,58	0,74	0,54	0,58	0,38	0,56
(B)	0,78	0,83	0,61	0,92	0,58	0,72	0,65	0,76	0,52	0,80
(C)	0,26	0,25	0,24	0,28	0,24	0,29	0,25	0,26	0,24	0,24
(D)	0,52	0,55	0,58	0,60	0,58	0,62	0,54	0,62	0,49	0,51
<b>Total impuretés connues</b>	2,66	2,62	2,09	2,93	1,98	2,37	1,98	2,22	1,63	2,11
<b>Somme Impuretés inconnues</b>	2,38	2,37	2,18	2,22	2,27	2,44	2,29	2,13	2,24	2,09
<b>Total impuretés</b>	5,04	4,99	4,27	5,15	4,25	4,81	4,27	4,35	3,87	4,20
<b>REMISE EN SOLUTION</b>										
<b>Temps de remise en solution dans 4 ml glucose 5 %</b>	-	40s	-	50s	-	50s	-	2mn30s	-	3 mn
<b>pH de la solution reconstituée dans 4 ml de glucose à 5 %</b>	-	4,54	-	4,56	-	4,56	-	4,55	-	4,44

(1): Solution après filtration

5 (2) : Lyophilisat (T12H)

Tableau X

Exemple 5

On prépare selon l'exemple 1, des solutions de quinupristine/dalfopristine (30/70) à 125 mg/ml pour lesquelles l'ajustement du pH à 4,75 est effectué par des quantités variables d'acide méthanesulfonique 1N (1 à 9 ml/l) et d'hydroxyde de sodium 0,5N (0 à 15 ml/l).

Conditions d'ajustement du pH (par litre de solution)

	lot 5a	lot 5b	lot 5c	lot 5d	lot 5e	lot 5f
Quantité initiale d'acide méthanesulfonique (g/l)	16,36	16,36	16,36	16,36	16,36	16,36
Ajustement du pH :						
Ajout d'acide méthane sulfonique 1N (ml/l)	1,0	2,0	4,0	4,4	8,0	9,0
Ajout NaOH 0,5N (ml/l)	0	0	7,0	6,2	15,0	14,0

Tableau XI

La stabilité des solutions fabriquées (étudiée à 3°C sur une période de 20 heures) ne montre pas de différence selon les conditions d'ajustement du pH

Stabilité des lyophilisats obtenus :

	lot 5b				lot 5d				lot 5f			
	T0	4 mois	1 mois	3 mois	T0	4 mois	1 mois	3 mois	T0	4 mois	1 mois	3 mois
		4°C	30°C	30°C		4°C	30°C	30°C		4°C	30°C	30°C
Titre (mg/5ml)												
Quinupristine	154,4	153,5	153,6	156,5	152,8	153,3	151,4	150,8	146,3	146,2	144,1	143,0
Dalfopristine	361,4	364,4	358,9	354,8	358,7	359,6	353,2	345,7	345,9	347,1	340,7	336,4

	lot 5b				lot 5d				lot 5f			
	T0	4 mois	1 mois	3 mois	T0	4 mois	1 mois	3 mois	T0	4 mois	1 mois	3 mois
		4°C	30°C	30°C		4°C	30°C	30°C		4°C	30°C	30°C
% impuretés												
(A)	0,88	0,73	0,88	0,81	0,83	0,76	0,85	0,78	1,00	0,91	1,01	0,96
(B)	0,51	0,45	0,77	0,91	0,49	0,53	0,86	0,98	0,60	0,58	0,84	0,98
(C)	0,23	0,14	0,22	0,27	0,26	0,20	0,29	0,26	0,24	0,17	0,22	0,25
(D)	0,40	0,35	0,45	0,46	0,34	0,34	0,39	0,40	0,39	0,33	0,33	0,39
(E)	0,16	0,15	0,19	0,17	0,16	0,15	0,17	0,16	0,21	0,19	0,22	0,21

Tableau XII

Exemple 6

On prépare des solutions congelées de quinupristine/dalfopristine (30/70) salifiées par de l'acide méthanesulfonique ou de l'acide chlorhydrique, dans une gamme de concentration de 5 et 20 mg/ml, et à des pH de 3,5 et 5,0 et en présence d'agents isotonisants tels que le NaCl et le glucose. La stabilité des solutions stockées sous forme congelée est jugée satisfaisante.

- 10 (a) 800 g d'eau pour préparation injectable sont introduits dans une cuve de dissolution équipée d'une station de réfrigération. La solution est réfrigérée à une température comprise entre 0 et 6°C tout au long de la fabrication. On ajoute 98% de la quantité d'acide méthanesulfonique nécessaire à la dissolution et à l'ajustement du
- 15 pH. 1,5 g de quinupristine sont introduits et dissous par agitation mécanique. 3,5 g de dalfopristine sont introduits et dissous par agitation mécanique. La solution est isotonisée avec du glucose. Le pH de la solution est ajusté à 5,0 par une solution 0,1N d'acide méthanesulfonique. La solution est complétée à 1 litre avec de l'eau
- 20 pour préparation injectable.

Stabilité du lot préparé ci-dessus en (a) pendant une période de 3 mois à -22°C :

	T0	3 mois
<i>Titre (mg/ml)</i>		
Dalfopriline	3,37	3,38
Quinupristine	1,41	1,37
<i>% impuretés</i>		
(A)	2,42	2,55
(B)	0,32	0,37
(C)	0,18	0,29
(D)	0,32	0,37
(E)	-	0,12

Tableau XIII

- 5 (b) On opère comme décrit ci-dessus, mais en introduisant 6 g de quinupristine et 14 g de dalfopriline. Le pH de la solution est ajusté à 3,5 par une solution 0,1N d'acide méthanesulfonique. La solution est complétée à 1 litre avec de l'eau pour préparation injectable.
- 10 Stabilité du lot préparé ci-dessus en (b) pendant une période de 3 mois à -22°C :

	T0	3 mois
<i>Titre (mg/ml)</i>		
Dalfopriline	14,0	16,8
Quinupristine	5,5	6,6
<i>% impuretés</i>		
(A)	0,29	0,74
(B)	0,26	0,30
(C)	0,27	0,28
(D)	0,31	0,40

Tableau XIV

- (c) On opère comme décrit ci-dessus en (a), mais en isotonisant la
- 15 solution par du chlorure de sodium et en ajustant le pH à 3,5 par une

solution 0,1N d'acide méthanesulfonique. La solution est complétée à 1 litre avec de l'eau pour préparation injectable.

Stabilité du lot préparé ci-dessus en (c) pendant une période de 3 mois à -22°C :

	T0	3 mois
<i>Titre (mg/ml)</i>		
Dalfopriline	3,57	3,90
Quinupristine	1,42	1,57
<i>% impuretés</i>		
(A)	0,25	0,56
(B)	0,20	0,21
(C)	0,21	0,15
(D)	0,30	0,35

5

Tableau XV

(d) On opère comme décrit ci-dessus en (c), mais en ajustant le pH à 5,0 par une solution 0,1N d'acide chlorhydrique. La solution est complétée à 1 litre avec de l'eau pour préparation injectable.

Stabilité du lot préparé ci-dessus en (d) pendant une période de 3  
10 mois à -22°C :

	T0	3 mois
<i>Titre (mg/ml)</i>		
Dalfopriline	3,41	3,89
Quinupristine	1,45	1,63
<i>% impuretés</i>		
(A)	2,77	2,64
(B)	0,32	0,35
(C)	0,21	0,15
(D)	0,32	0,37

Tableau XVI

REVENDICATIONS

- 1 - Composition pharmaceutique stabilisée, à base de l'association quinupristine / dalfopriline, caractérisée en ce qu'elle comprend une quantité au moins stoechiométrique d'acide méthanesulfonique ou  
5 d'acide chlorhydrique et en ce que son pH est compris dans l'intervalle [3,5 ; 5].
- 2 - Composition pharmaceutique stabilisée, selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle peut être lyophilisée, congelée ou à l'état liquide.
- 10 3 - Composition pharmaceutique stabilisée, selon la revendication 1 ou 2, caractérisée en ce qu'elle comprend :
- la dalfopriline et la quinupristine ;
  - l'acide méthanesulfonique ou chlorhydrique, au moins en  
15 quantité stoechiométrique par rapport à la dalfopriline et la quinupristine introduites ;
  - le cas échéant un excès d'acide méthanesulfonique ou chlorhydrique destiné à ajuster le pH de la solution ainsi formée, dans l'intervalle [3,5 ; 5] ;
  - éventuellement un agent isotonisant et/ou d'autres adjuvants  
20 pharmaceutiquement acceptables;
  - une quantité d'eau convenable pour ajuster la concentration de la solution,
- et en ce que l'eau est éliminée dans le cas d'un lyophilisat.
- 4 - Composition pharmaceutique stabilisée, selon la revendication 3,  
25 caractérisée en ce que la concentration en principe actif quinupristine / dalfopriline est comprise entre 5 et 250 mg/ml et lorsqu'il s'agit d'un lyophilisat la proportion en principe actif est comprise entre 5 et 95 %.

- 5 - Composition pharmaceutique stabilisée, selon la revendication 4, caractérisée en ce que la concentration en principe actif quinupristine / dalfoprismine dans le lyophilisat est comprise entre 20 et 90 %.
- 5 6 - Composition pharmaceutique stabilisée, selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le pH est compris dans l'intervalle [3,5 ; 4,5].
- 7 - Composition pharmaceutique stabilisée, selon la revendications 6, caractérisée en ce que le pH est 3,5.
- 10 8 - Composition pharmaceutique stabilisée, selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que le pH est compris dans l'intervalle [4,5 ; 5].
- 9 - Utilisation d'une composition pharmaceutique stabilisée, lyophilisée ou congelée, selon la revendication 2, pour la
- 15 préparation d'une solution stabilisée prête à l'emploi.
- 10 - Procédé de préparation d'une composition pharmaceutique selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'on dissout simultanément ou successivement la quinupristine, la dalfoprismine, l'acide méthanesulfonique ou l'acide chlorhydrique dans de l'eau puis ajuste
- 20 le pH dans l'intervalle [3,5 ; 5].
- 11 - Procédé de préparation selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'on dissout successivement la quinupristine puis la dalfoprismine dans de l'eau acidifiée par l'acide méthanesulfonique ou l'acide chlorhydrique, puis ajuste le pH dans l'intervalle [3,5 ;
- 25 5].
- 12 - Procédé selon la revendication 10 ou 11, pour la préparation d'une composition pharmaceutique selon la revendication 2, caractérisé en ce que le cas échéant la solution obtenue est ensuite lyophilisée et/ou congelée.



13- Utilisation de l'acide méthanesulfonique ou de l'acide chlorhydrique pour la préparation de compositions pharmaceutiques stabilisées selon l'une des revendications 1 à 8.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 97/02047

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K31/44 A61K31/42 A61K47/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	EP 0 135 410 A (RHONE-POULENC SANTE) 27 March 1985 see page 57; examples A, B	1
A	EP 0 248 703 A (RHONE-POULENC SANTE) 9 December 1987 cited in the application see page 28, line 3 - line 18	1
A	BERNARD E. ET AL: "Pharmacokinetics and suction blister fluid penetration of a semisynthetic injectable streptogramin RP59500" EUR. J. MICROBIOL. INFECT. DIS., vol. 13, no. 9, 1994, pages 768-771, XP002037989 see page 768, column 2, paragraph 3	1



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 February 1998

Date of mailing of the international search report

11/03/1998

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Boulois, D

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

information on patent family members

International Application No

PCT/FR 97/02047

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0135410 A	27-03-85	FR 2549065 A	18-01-85
		AU 567951 B	10-12-87
		AU 3047184 A	16-01-86
		CA 1222513 A	02-06-87
		CA 1231307 C	12-01-88
		DE 3474146 A	27-10-88
		DK 342484 A	14-01-85
		JP 1903758 C	08-02-95
		JP 6031252 B	27-04-94
		JP 60075483 A	27-04-85
		SU 1396968 A	15-05-88
		US 4590004 A	20-05-86
EP 0248703 A	09-12-87	FR 2599036 A	27-11-87
		AU 601426 B	13-09-90
		AU 7323987 A	26-11-87
		CA 1271297 A	03-07-90
		DK 258587 A	23-11-87
		IE 60656 B	10-08-94
		JP 2558282 B	27-11-96
		JP 63022095 A	29-01-88
		JP 2659531 B	30-09-97
		JP 8319236 A	03-12-96
		KR 9501020 B	07-02-95
		MX 9203577 A	01-09-92
		SU 1616520 A	23-12-90
		US 4798827 A	17-01-89
		ZA 8703639 A	17-11-87

# • RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

De. e Internationale No  
PCT/FR 97/02047

<b>A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE</b> CIB 6 A61K31/44 A61K31/42 A61K47/02		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
<b>B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE</b> Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement) CIB 6 A61K		
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche		
Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS</b>		
Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	EP 0 135 410 A (RHONE POULENC SANTE) 27 mars 1985 voir page 57; exemples A,B ----	1
A	EP 0 248 703 A (RHONE POULENC SANTE) 9 décembre 1987 cité dans la demande voir page 28, ligne 3 - ligne 18 ----	1
A	BERNARD E. ET AL: "Pharmakokinetics and suction blister fluid penetration of a semisynthetic injectable streptogramin RP59500" EUR. J. MICROBIOL. INFECT. DIS., vol. 13, no. 9, 1994, pages 768-771, XP002037989 voir page 768, colonne 2, alinéa 3 -----	1
<input type="checkbox"/> Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents <input checked="" type="checkbox"/> Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe		
* Catégories spéciales de documents cités: "A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent "E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date "L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée) "O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens "P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée "T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention "X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément "Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier "Z" document qui fait partie de la même famille de brevets		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée  18 février 1998		Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale  11/03/1998
Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Fonctionnaire autorisé  Boulois, D

# \* RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Devisé Internationale No

PCT/FR 97/02047

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP 0135410 A	27-03-85	FR 2549065 A	18-01-85
		AU 567951 B	10-12-87
		AU 3047184 A	16-01-86
		CA 1222513 A	02-06-87
		CA 1231307 C	12-01-88
		DE 3474146 A	27-10-88
		DK 342484 A	14-01-85
		JP 1903758 C	08-02-95
		JP 6031252 B	27-04-94
		JP 60075483 A	27-04-85
		SU 1396968 A	15-05-88
		US 4590004 A	20-05-86
EP 0248703 A	09-12-87	FR 2599036 A	27-11-87
		AU 601426 B	13-09-90
		AU 7323987 A	26-11-87
		CA 1271297 A	03-07-90
		DK 258587 A	23-11-87
		IE 60656 B	10-08-94
		JP 2558282 B	27-11-96
		JP 63022095 A	29-01-88
		JP 2659531 B	30-09-97
		JP 8319236 A	03-12-96
		KR 9501020 B	07-02-95
		MX 9203577 A	01-09-92
		SU 1616520 A	23-12-90
		US 4798827 A	17-01-89
		ZA 8703639 A	17-11-87